

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a
la posición del cuerpo lúteo y sobrevivencia
embrionaria en llamas**

TESIS

para optar el título Profesional de Médico Veterinario

AUTORA

Sylvia Carnero Salazar

Lima-Perú

2007

CONTENIDO

	Pag.
Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
Contenido.....	iv
Lista de cuadros.....	v
Lista de figuras.....	vi
Lista de anexos.....	vii
 I. Introducción.....	 1
 II. Revisión Bibliográfica.....	 3
2.1 PUBERTAD.....	3
2.2 CONDUCTA SEXUAL.....	4
2.3 MECANISMOS NEUROENDOCRINOS EN EL CONTROL REPRODUCTIVO.....	5
2.3.1 Eje hipotálamo hipófisis ovario.....	5
2.3.2 Dinámica folicular.....	6
2.3.3 Ovulación.....	8
2.3.4 Cuerpo lúteo.....	10
2.3.5 Niveles de progesterona.....	11
2.4 GESTACIÓN.....	12
2.4.1 Implantación y placentación.....	12
2.4.2 Reconocimiento maternal de la preñez (RMP).....	13
2.4.3 Mortalidad embrionaria.....	15
2.5 DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN.....	16
2.6 TRANSFERENCIA DE EMBRIONES.....	17
2.6.1 Crecimiento y maduración folicular múltiple.....	18
2.6.2 Donadoras y receptoras.....	19
2.6.3 Recolección y evaluación de embriones.....	21
2.6.4 Transferencia embrionaria.....	23

III. Materiales y Métodos.....	25
3.1 Lugar de estudio.....	25
3.2 Animales.....	25
3.3 Procedimiento experimental.....	26
3.4 Análisis de los datos.....	30
IV. Resultados.....	31
V. Discusión.....	34
VI. Conclusiones.....	38
VII. Bibliografía.....	39
VIII. Anexos.....	49

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Clasificación de calidad embrionaria.....	27
Cuadro 2: Relación de llamas preñadas y vacías según el grupo de transferencia embrionaria.....	31
Cuadro 3: Asociación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.....	32
Cuadro 4: Asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez.....	33

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1: Diseño experimental.....	29
----------------------------------	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Asociación de la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez en llamas.....	49
Anexo 2: Asociación de la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.....	50
Anexo 3: Asociación del tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez.....	51
Anexo 4: Tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria.....	51

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar el efecto de la transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a la posición del cuerpo lúteo sobre la tasa de preñez en llamas. Se utilizaron 43 llamas hembras receptoras de 4 a 6 años, distribuidas aleatoriamente en 4 grupos de estudio: G1(n=10): Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral, G2 (n=10): Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral, G3 (n=15): Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral y G4 (n=8): Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral. Se utilizaron 10 llamas hembras como donadoras de embriones, las cuales fueron sincronizadas con LH (1ml), superovuladas con 1000 UI de eCG y se provocó luteólisis con prostaglandina (1ml), siendo empadradas posteriormente. El día del empadre las llamas receptoras recibieron tratamiento con LH, con el propósito de sincronizarlas con las donadoras. Siete días post empadre se realizó el lavado uterino para la recolección, evaluación y transferencia de los embriones. La transferencia embrionaria a los grupos experimentales se realizó con embriones frescos el mismo día. Los resultados obtenidos señalan una tasa de preñez de 60% (G1) y 75% (G3) en las hembras con transferencia embrionaria ipsilateral derecha e izquierda respectivamente, mientras que en la transferencia contralateral derecha e izquierda fueron 30% (G2) y 25%(G4) respectivamente. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el grupo G1 con los grupos G2, G3 y G4, además G2 no muestra diferencias significativas ($p>0.05$) con G4. Mientras que se encontró diferencia ($p<0.05$) entre el grupo G3 con los grupos G2 y G4. Estos resultados indicarían una mayor tasa de sobrevivencia embrionaria en llamas al realizar la transferencia en el cuerno ipsilateral a la posición del cuerpo lúteo ubicado en el ovario izquierdo.

Palabras Claves: Transferencia embrionaria, cuerpo lúteo, ipsilateral, contralateral, llamas, preñez.

ABSTRACT

The study was carried out with the objective of to evaluate the embryo survival after the embryo transfer to the uterine horn ipsilateral and contralateral to the corpus luteum (CL) in llamas. Fourtythree llamas recipient females, from 4 to 6 years old were randomly assigned in 4 groups: G1 (n=10): CL in right ovary and ipsilateral embryo transfer, G2 (n=10): CL in right ovary and contralateral transfer, G3 (n=15): CL in left ovary and ipsilateral transfer, and G4 (n=8): CL in left ovary and contralateral transfer. Ten llamas were used as embryo donors, they were synchronized with LH (1ml), then superovulated with 1000 UI eCG and induced to luteolysis with PGF2 α ; after that, all of them were mated. The same day of mating, the recipients were treated with LH, with the purpose of synchronization with donors. Seven days postmating, the uterine horns were flushed to recover, evaluate and transfer the embryos. The nonsurgical embryo transfer was used the same day with fresh embryos. The results of pregnancy rate were 60% (G1) and 75% (G3) in recipient females with ipsilateral embryo transfer right and left respectively. On the other hand, contralateral embryo transfer right and left were 30% (G2) and 25% (G4) respectively. However, the differences did not reach significance ($p>0.05$) between G1 with G2, G3 and G4. Furthermore, G2 not differ ($p>0.05$) from G4. Whereas, there is difference ($p<0.05$) between G3 with G2 and G4. These results indicate that pregnancy rate is major in llamas when the embryo transfer was to the uterine horn ipsilateral to the CL in the left ovary.

Key words: embryo tansfer, corpus luteum, ipsilateral, contralateral, pregnancy, llamas.

I. INTRODUCCION

La crianza de llamas es una actividad de gran importancia socioeconómica en las zonas altoandinas, debido a que constituyen una fuente de carne de alto valor proteico y fibra que les permite en menor grado obtener ingresos económicos. Sin embargo, tienden a presentar una baja tasa de natalidad (50%) (Novoa y Leyva, 1996), la cual esta asociada a la presentación de altas tasas de mortalidad embrionaria, similar a lo encontrado en alpacas (mortalidad >50 %) (Fernández-Baca *et al*, 1970b). Los factores causantes de la mortalidad embrionaria en los camélidos no son bien conocidos. Sin embargo, podría ser ocasionada por desbalances hormonales, respuesta inmunológica, aberraciones cromosómicas, ambiente uterino poco favorable (Hafez, 2002).

Fernández-Baca *et al* (1973) reportaron que el mayor porcentaje de gestación en alpacas se encontró en el cuerno uterino izquierdo. Asimismo, se encontró que el cuerno uterino izquierdo vacío puede causar luteólisis en el ovario derecho y terminar con la preñez, lo que sugiere porque el embrión migra hacia el cuerno izquierdo para sobrevivir (Fernández-Baca *et al*, 1979).

Los camélidos sudamericanos presentan una baja tasa reproductiva, la cual podría incrementar empleando técnicas de reproducción asistida realizadas en otras especies. La transferencia de embriones es una alternativa tecnológica que puede contribuir a mejorar su productividad. Los reportes sobre transferencia embrionaria en camélidos son

limitados, y por lo general están basados en estudios realizados en otras especies. Arthur (1991) señaló el lugar de transferencia como factor que influye sobre la sobrevivencia embrionaria en vacas, siendo los porcentajes de gestación menores en aquellos embriones que no fueron situados en la luz del cuerno uterino del mismo lado (ipsilateral) del cuerpo lúteo. Mientras que en camélidos sudamericanos, el cuerno uterino izquierdo es indicado como lugar de transferencia (Taylor *et al*, 2001; Taylor, 2000; Aller, 2002; Huanca *et al*, 2004). Por lo que el presente trabajo plantea como objetivo determinar si existe influencia del lugar de transferencia embrionaria ipsilateral y contralateral a la ubicación del cuerpo lúteo sobre la sobrevivencia embrionaria en llamas.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 PUBERTAD

La hembra alcanza la pubertad cuando es capaz de liberar gametos viables y muestran una conducta de estro similar a las hembras adultas. En el caso de la alpaca hembra se observa a los 12 o 13 meses de edad, aún cuando la actividad ovárica empieza a los 10 meses con la presencia de folículos de 5 mm o más. Además, se observa un incremento en las concentraciones de gonadotropinas (Hafez, 2002).

Niveles elevados de la hormona leptina están asociados con el inicio de la pubertad, ya que esta hormona es necesaria para la secreción de GnRH y la activación del eje hipotálamo pituitario gonadal (Mantzoros, 2000; Chan *et al*, 2001; Cervero *et al*, 2006).

En otras especies se relaciona a la pubertad con el peso corporal, ya que los niveles nutricionales la pueden adelantar o retrasar según la disponibilidad del alimento. En las alpacas y llamas se ha observado cuando alcanzan el 50 % de su peso corporal (Sumar, 1999). Chiri *et al* (2001) encontraron que el 70 % de llamas al año de edad con un peso promedio de 56.5 Kg alcanzaron la pubertad.

Novoa (1992) señala que las alpacas que alcanzan el 60 % del peso adulto (33 Kg) se reproducen sin problemas. Sin embargo, el peso vivo de las crías al parto serán inferiores

significativamente que el de las crías de las hembras con 38 Kg de peso a la monta (Leyva y Sumar, 1981).

Se ha demostrado que la conducta sexual, así como la tasa de ovulación, fertilización y natalidad no difieren entre las hembras de 1 año de edad y las adultas (Novoa, 1992). Aunque, en la actualidad las hembras son empadradas por primera vez a los dos años de edad, teniendo la mitad su primera cría a los tres años (Novoa, 1992).

2.2 CONDUCTA SEXUAL

En los camélidos no se observa un ciclo estral definido comparado a otras especies (Novoa, 1992; Zuñiga, 1958; Rodríguez, 1959), siendo especies de ovulación inducida. Las cuales en ausencia de estímulo copulatorio, muestran periodos de receptividad sexual hasta de 36 días, con breves periodos de rechazo al macho, que puede durar 48 horas (San Martín *et al*, 1968; Novoa, 1992). La receptividad continua, mientras no son servidas, se debe a que hay un desarrollo folicular continuo con la consiguiente secreción de estrógenos (Fernández Baca *et al*, 1971).

La hembra receptiva adopta una posición particular, a veces intenta escapar, después de un breve periodo de persecución por parte del macho o se acerca a un macho que está copulando a otra hembra y adopta la posición característica (San Martín *et al*, 1968; Fernández Baca *et al*, 1971).

Las hembras no receptivas rechazan los requerimientos del macho, escapando y escupiendo, aunque machos muy agresivos pueden forzar a algunas hembras sobretodo a las primerizas a adoptar la posición de cópula (Sumar, 1993).

La actividad sexual es intensa al inicio del apareamiento, posteriormente va disminuyendo en intensidad, tal es así que en el primer día de empadre más del 50 % de las hembras son servidas y muchas de ellas reciben hasta 5 o 6 servicios ese día, siendo

la actividad de los machos muy intensa realizando hasta 15 servicios el primer día con una duración de 5 – 40 minutos cada uno. Sin embargo, la duración de la cópula varía en relación a la frecuencia de montas del macho, siendo el primer servicio más prolongado que los sucesivos en el mismo día y a la competencia entre ellos mismos (Fernández Baca *et al*, 1971).

2.3 MECANISMO NEUROENDOCRINO DE CONTROL REPRODUCTIVO

2.3.1 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El sistema neuroendocrino es responsable de regular la mayor parte de funciones reproductivas en animales domésticos durante los ciclos estrales (Hafez, 2002).

En el hipotálamo se produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual es secretada en forma pulsátil, estimulando la liberación y secreción de hormonas gonadotróficas de la hipófisis como son las hormonas folículoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) (Arthur, 1991; Hafez, 2002) responsables del control de la actividad ovárica, secreción hormonal y la ovulación. De esta manera, el estímulo coital provoca un reflejo neuroendocrino que activa el centro de la GnRH, liberándose la oleada preovulatoria de LH, la cual induce a la ovulación (Arthur, 1991; Fernández Baca *et al*, 1970a). Sin el estímulo ovulatorio, el desarrollo de las ondas foliculares anovulatorias en llamas es continuo (Adams *et al*, 1990).

Después de la ovulación, las células del folículo ovulatorio se luteinizan y empieza la secreción de progesterona, la cual tiene un efecto de retroalimentación negativa en el hipotálamo, al evitar la secreción de GnRH y desensibilizar a los gonadotrófos a la acción de la GnRH (Stevenson, 1997).

La retroalimentación positiva de la cascada de oxitocina desde el cuerpo lúteo al útero y de la prostaglandina F2 α desde el útero al cuerpo lúteo probablemente sirve

como un mecanismo que asegura la luteólisis. De esta manera, los niveles de progesterona declinan conjuntamente con su efecto inhibitorio sobre el hipotálamo y la hipófisis permitiendo el resurgimiento de los niveles de LH para iniciar un nuevo ciclo (Stevenson, 1997).

Leyva y García (1999d) sugieren que las alpacas que presentan celo después de la ovulación se debe a que los niveles de progesterona secretados por el cuerpo lúteo en formación son insuficientes para ejercer este efecto inhibitorio sobre el eje hipotalámico-hipofisiario.

2.3.2 Dinámica folicular

Los camélidos son especies de ovulación inducida, presentan celo continuo, siendo receptivas al macho por periodos de 30 a 40 días y siendo no receptivas por periodos cortos no mayores de 48 horas (Novoa, 1992).

En ausencia del macho se ha observado mediante ultrasonografía y laparoscopia la ocurrencia de ondas foliculares repetidas de crecimiento y regresión sin ovulación en alpacas (Bravo *et al*, 1990) y llamas (Adams *et al*, 1990).

Las llamas y alpacas presentan ciclos de actividad folicular que duran aproximadamente 13 días, según Bravo y Sumar (1989) mediante laparoscopia en alpacas determinaron que la duración es de 12 días y Bravo *et al* (1990) mediante ecografía en llamas reportaron 13.8 días. En cada onda folicular, un grupo de folículos es reclutado y uno de ellos es seleccionado como folículo dominante, iniciando su crecimiento, diferenciándose y alcanzando el tamaño ovulatorio (≥ 7 mm), mientras que los demás regresionan (Bravo *et al*, 1990; Fernández-Baca, 1993; Brown, 2000).

El folículo crece de 3 a 8 – 12 mm de diámetro en un promedio de 4.8 días, se mantiene en fase madura (8 – 12 mm) por 5 días y luego regresiona en un lapso de 4 días (Bravo *et al*, 1990; Novoa y Leyva, 1996). En un 85 % de los casos el crecimiento se

alterna entre ambos ovarios lo cual explicaría los largos periodos de aceptación al macho (Bravo *et al*, 1990).

El folículo dominante parece controlar su duración (Adams, 2001); puesto que si no hay ovulación se atresia; reconociéndose un nuevo folículo 2 a 3 días después de la primera disminución de tamaño del folículo dominante (Bravo *et al*, 1990). Sin embargo, después de la cópula, de la ovulación y de la formación del cuerpo lúteo se produce la emergencia de una nueva onda folicular con presencia de un folículo dominante que no llega a ovular y posteriormente regresa (Araínga, 2002).

Sin embargo, Adams *et al* (1990) determinaron mediante ultrasonografía en llamas que el promedio de crecimiento a regresión del folículo dominante dura 20 – 25 días en hembras no preñadas. Además, el intervalo entre la emergencia de folículos dominantes sucesivos es de 11.1 a 20 días.

Al emerger el folículo dominante (≥ 6 mm) incrementa su producción de estradiol y de inhibina; que tiene como consecuencia, la maduración sostenida de dicho folículo y la restricción del crecimiento de otros folículos (Adams *et al*, 1990; Bravo *et al*, 1990; Monniaux *et al*, 1997), reportándose una relación inversa entre el diámetro del folículo dominante y el número de folículos pequeños (Adams *et al*, 1990).

El desarrollo de los folículos terminales es dependiente estrictamente de gonadotropinas dado que su crecimiento esta caracterizado por un fuerte incremento en la sensibilidad a la FSH por sus células de la granulosa (Monniaux *et al*, 1997) y a los receptores de LH que adquiere al alcanzar el tamaño preovulatorio, permitiéndole sobrevivir al descenso de FSH que ocurre previo al pico preovulatorio de LH; a diferencia de los folículos subordinados que parecen no desarrollar estos mecanismos de sobrevivencia, por lo cual se vuelven atrésicos (Findlay, 1993). También, se ha reportado que el estado de lactación así como la presencia del cuerpo lúteo se asocian con una depresión en el desarrollo folicular (Novoa y Leyva, 1996)

En consecuencia, la integración de señales extraováricas y factores intrafoliculares serían los que determinan si un folículo continuará su desarrollo o seguirá el camino a la atresia (Webb *et al*, 2003).

Durante el crecimiento folicular se produce una correlación positiva entre el tamaño del folículo y los niveles de estradiol 17- β (Novoa y Leyva, 1996).

Los folículos > 6 mm son responsables de la continua receptividad. El comportamiento de la hembra se asocia con las concentraciones plasmáticas de estradiol 17- β (33- 700 pmol / L). Los valores permanecen elevados por 18 – 24 horas post empadre para caer significativamente durante el segundo día, permaneciendo bajo y estable hasta el día 10 (Bravo *et al*, 1990).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia del folículo dominante en ambos ovarios en un 85 % (Fernández-Baca, 1993); detectándose después de la ovulación el cuerpo lúteo en llamas en el ovario derecho en 51 %, ovario izquierdo en 47 % y en ambos en 2 % (Bravo *et al*, 1990).

2.3.3 Ovulación

Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida, ya que requieren del estímulo de la copulación o de la aplicación de hormonas. La ovulación en alpacas y llamas ocurre a las 26 horas y de 46 a 48 horas post coito, respectivamente (Adams *et al*, 1990; Fernández Baca *et al*, 1970a; Novoa y Leyva, 1996) y de manera artificial 24 a 30 horas post administración de las hormonas gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y hormona luteinizante (LH) (Fernández Baca *et al*, 1971; Leyva y García, 1999 b, c y d; Aller *et al*, 1999; Huanca *et al*, 2001).

La cópula estimula las terminaciones nerviosas de cérvix y vagina, éste estímulo viaja hacia el hipotálamo provocando la liberación de GnRH, desencadenando la liberación de

LH en la hipófisis produciendo la ovulación (Fernández Baca *et al*, 1970a; Bravo *et al*, 1990; Hafez, 2002). Después de la cópula, los valores basales de LH (0.7 ng / ml) se incrementan a 1.1 ng / ml a los 15 minutos, alcanzando el máximo de 4.4 ng / ml a las 2 horas y luego desciende nuevamente al nivel basal en un período de 5 - 6 horas (Bravo *et al*, 1990; Novoa y Leyva, 1996).

Bravo *et al* (1991) señalaron que la respuesta ovulatoria a la copulación varía de acuerdo al estadio de desarrollo del folículo (crecimiento, maduración o regresión), además de existir una relación muy marcada entre el tamaño del folículo y la liberación de LH. Ya que, sólo aquellas hembras con folículos ≥ 7 mm responden con niveles adecuados de LH, ovulan y producen un cuerpo lúteo normal, además pueden mostrar celo durante 4 días post cópula inicial y ser servidas (pero estos servicios no producen descarga de LH). Aquellas con folículos pequeños no ovulan y liberan cantidades menores de LH, estimulando un continuo desarrollo del folículo dominante. Aquellas que presentan folículos en regresión y copulan, el pico de LH produce luteinización de estos y no ovulan. Este proceso retrasa el desarrollo del nuevo folículo dominante en aproximadamente 5 – 7 días (Bravo *et al*, 1991; Novoa y Leyva, 1996).

Fernández Baca *et al* (1970) indican que aproximadamente un 20 % de hembras con ovarios aparentemente activos no responden con ovulación a la monta simple o múltiple. Además, puede ocurrir que los machos usados sean incapaces de proporcionar el estímulo adecuado para inducir la ovulación (Fernández Baca *et al*, 1971).

El 10 % de las alpacas pueden presentar ovulación múltiple (Fernández Baca *et al*, 1970; Novoa, 1992); asimismo, las ovulaciones múltiples pueden ocurrir en un 20 % después de la administración de hCG (Fernández Baca, 1993). Además, se ha reportado que 8 – 15 % de llamas (Adams *et al*, 1991) y 5 % de alpacas (Fernández Baca *et al*, 1970) ovulan espontáneamente, probablemente por estímulos olfatorios, visuales o auditivos (Novoa y Leyva, 1996).

En caso de hembras preñadas, 24 horas luego del parto se registra el celo; sin embargo, la ovulación solo ocurre 10 días post parto (Sumar, 1972 citado en Novoa, 1992).

2.3.4 Cuerpo lúteo

Producida la ruptura folicular e independientemente de la fertilización o no del óvulo liberado sigue la formación del cuerpo lúteo (Fernández Baca *et al*, 1970a). Dándose inicio a la organización estructural y funcional del cuerpo lúteo (CL) por acción de la LH, las células tecales se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas, además se produce la hiperplasia, hipertrofia y luteinización de las células de la granulosa dando lugar a las células luteales grandes; ambas células luteales son responsables de secretar progesterona (Fuentes, 1961; Hafez, 2002).

El cuerpo lúteo se ha detectado mediante laparoscopia 3 – 4 días post servicio en alpacas y 4 –5 días post servicio (2 –3 días post ovulación) en llamas mediante ultrasonografía (England *et al*, 1969; Fernández Baca *et al*, 1970a; Adams *et al*, 1989 y 1991; Bourke *et al*, 1992).

En alpacas y llamas, alcanza el máximo desarrollo (12 – 14 mm) los días 8 - 9 post servicio, luego disminuye el tamaño recuperándose después del día 10 en preñadas, y en hembras no preñadas, el cuerpo lúteo declina claramente en tamaño y actividad secretoria para el día 12, dándose la regresión completa entre los días 15 y 18 (Fernández Baca *et al*, 1970a; Adams *et al*, 1991). En hembras preñadas el diámetro máximo se da en el día 21 ± 1.2 (16.3 ± 0.3 mm) (Adams *et al*, 1991), siendo necesario para el mantenimiento de la preñez; ya que existe similar relación entre el desarrollo del cuerpo lúteo y el perfil secretorial de progesterona en las alpacas y llamas (Fernández Baca *et al*, 1971; Adams *et al*, 1991), aunque para el día 4 las concentraciones sean significativamente más alta en estas últimas (Aba *et al*, 1995). En llamas y alpacas preñadas, Aba *et al* (1995) señalan que existe una disminución transitoria en las concentraciones de progesterona entre los días 8 y 18 post- ovulación.

Por otro lado, se ha observado la presencia de folículos en crecimiento y maduros que acompañan al cuerpo lúteo por un tiempo no menor de 10 días (Fuentes, 1961).

2.3.5 Niveles de progesterona

Las concentraciones de progesterona en plasma aumentan a partir del día 4 – 5 post monta y el día 8 –9 alcanzan niveles máximos. Además, en hembras preñadas, estas concentraciones permanecen durante toda la gestación aunque se produce un descenso entre los días 8 - 10 y nuevamente se recupera entre los días 18 - 28 en llamas y entre los días 11 – 13 en alpacas (Fernández Baca *et al*, 1970a; Adams *et al*, 1991).

Adams *et al* (1991) hallaron niveles de progesterona de 5.6 ng / ml para el día 6, 3.1 ng / ml para el día 10 y 6.3 ng / ml para el día 12, en llamas preñadas, y que en hembras no preñadas las concentraciones de progesterona circulantes decrecieron de 1 a 3 días antes de la disminución morfológica del cuerpo lúteo.

En hembras vacías la caída de progesterona coincide con el aumento de prostaglandina (días 9 – 12 post servicio). Mientras que en las hembras preñadas, no se registran picos de prostaglandina en este periodo (Novoa y Leyva, 1996).

Aba *et al* (2000) determinaron que la concentración de prostaglandina F2 α en llamas para el día 10 es de 3.8 nmol / l declinando a 1.1 nmol / l para el día 12.

Por otro lado, Leyva y García (1999c) demostraron que cuando se administra prostaglandina exógena después del día 4 de la fase luteal inducida, la vida del cuerpo lúteo se acorta.

2.4. GESTACIÓN

La duración de la gestación varía de 335 a 360 días en llamas y 343 y 346 días en alpacas Huacaya y Suri. (Novoa y Leyva, 1996). Presentándose la mayor parte de las gestaciones con un sólo feto ubicado en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca *et al*, 1973).

En alpacas y llamas, el cuerpo lúteo es necesario para la conservación de la preñez durante todo el período de gestación, existiendo una relación entre el diámetro del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en plasma (Sumar, 2002).

Se ha observado en las gestantes el aumento detectable de progesterona en sangre a los 3-4 días, luego la concentración disminuye entre los días 8 y 10 en las llamas (Adams *et al*, 1991), mientras que en alpacas se produce entre los días 8 y 11 y hay una reducción transitoria en el diámetro del cuerpo lúteo, que luego se recupera debido al reconocimiento maternal de la preñez, permaneciendo las concentraciones de progesterona elevadas en plasma hasta cerca de 2 semanas antes del parto, cuando empiezan a descender (Novoa y Leyva, 1996; Sumar, 2002).

Bravo *et al* (1996) señalan en alpacas, que a los 4 días post cópula el óvulo fertilizado se encuentra en estadio de mórula en el oviducto y al día 7 en estadio de mórula compacta, mientras que al día 10 se encuentra en el estadio de blastocisto en el cuerno uterino.

2.4.1 Implantación y placentación

La implantación del embrión en especies domésticas no es invasiva. El embrión se puede adherir a la superficie epitelial cuando se desprende la glucoproteína Muc-1, la cual es estimulada por la progesterona que pierde su efecto cuando disminuyen los receptores de progesterona. La pérdida de Muc-1 de la superficie epitelial permite el contacto de integrinas con sus receptores acercando el embrión a la superficie uterina

(Hafez, 2002) y formando en los camélidos un tipo de placentación epiteliocorial de tipo difusa, tal como los porcinos y equinos (Skidmore, 2005).

La implantación en camélidos sudamericanos parece ocurrir dentro de los primeros 21 días que siguen al servicio fértil, dado que después de esta etapa se puede encontrar y observar unión definitiva entre membranas fetales y maternas (Fernández Baca *et al*, 1971). Olivera *et al* (2003) señalan en las alpacas, que el día 15 el blastocisto se encuentra libre en el lumen uterino, observándose los días 22 y 26 de gestación al trofoblasto con áreas de contacto y adhesión por complejos de interdigitación a la superficie uterina. Posteriormente, al día 30 el trofoblasto está rodeado por tejido conectivo extraembrionario, el cual al día 45 se encuentra bien vascularizado, indicando la formación placentaria.

La implantación del embrión en camélidos, generalmente se observa en el cuerno uterino izquierdo, a pesar que la actividad ovulatoria es similar en ambos ovarios, lo que indicaría que los embriones que se originan en el cuerno uterino derecho tienen que migrar al lado izquierdo para su implantación (Fernández Baca *et al*, 1973; Sumar, 1997). Por otro lado, Fernández Baca *et al* (1975) señalan que en ausencia del cuerno uterino izquierdo, el cuerno uterino derecho ofrece condiciones igualmente favorables para la sobrevivencia del embrión.

Si bien no se conoce exactamente las razones de la migración, una explicación al respecto estaría en la actividad luteolítica diferencial de ambos cuernos uterinos al ser sólo local en el cuerno derecho y local y sistémica en el izquierdo (Fernández Baca *et al*, 1979) por lo cual, el embrión al implantarse en el cuerno izquierdo contrarrestaría su acción luteolítica (Fernández Baca, 1993).

2.4.2 Reconocimiento Maternal de la Preñez (RMP)

En camélidos sudamericanos, se ha encontrado que el efecto luteolítico de la prostaglandina liberada del cuerno uterino derecho es sólo local, mientras que la

liberación en el cuerno uterino izquierdo tiene efectos local y sistémico (Fernández Baca *et al*, 1979).

En animales preñados la concentración de progesterona permanece elevada durante toda la gestación, aunque se produce un descenso entre los días 8 y 10, y nuevamente se recupera entre los días 18 y 28 en llamas y entre los días 11 y 13 en alpacas (Fernández Baca *et al*, 1970a; Adams *et al*, 1991). Esta recuperación en los niveles de progesterona y tamaño del cuerpo lúteo sugiere que existe una señal producida por el blastocisto que es responsable del reconocimiento maternal de la preñez.

Por otro lado, Geisert *et al* (1992) señalan que una disminución en los receptores de progesterona en el epitelio uterino de vacas, pueden estimular las secreciones uterinas que regulan el crecimiento del concepto y la liberación de proteína trofoblástica bTP-1 necesaria para inhibir la liberación de PGF2 α endometrial.

Bazer *et al* (1989, 1991) señalan que el embrión de ovejas secreta una proteína trofoblástica oTP-1 que inhibe la producción uterina de cantidades luteolíticas de PGF2 α producida en respuesta al estradiol y oxitocina (mediante inhibición de los receptores endometriales), la cual es secretada entre los días 10 y 21 de la gestación. Mientras que en vacas y cabras se secretan las proteínas trofoblásticas tipo 1 bovinas y caprinas (bTP-1 y cTP-1) entre los días 21 y 24 de gestación (Bazer *et al*, 1991). El interferón Tau (IFN- τ) actúa en el epitelio uterino para suprimir la transcripción de genes para los receptores de estrógeno y oxitocina bloqueando el efecto luteolítico, pero no tiene efecto sobre la expresión de los receptores de progesterona (Bazer *et al*, 1997). El mantenimiento de progesterona secretada por el CL asegura el establecimiento y mantenimiento de la preñez, siendo la secreción del IFN- τ en estas especies esencial para el RMP (Bazer *et al*, 1997)

Asimismo, el embrión del cerdo secreta estrógenos entre los días 10 y 16 de la gestación (Bazer *et al*, 1986), los cuales son esenciales para el establecimiento de la preñez, ya que los estrógenos al interactuar con la prolactina y proteínas secretadas por él,

alteran la secreción de $\text{PGF2}\alpha$ de una dirección endocrina (hacia la vasculatura uterina) a una dirección exocrina (hacia el lumen uterino) impidiendo así su efecto luteolítico (Bazer *et al*, 1986; Bazer *et al*, 1989, Geisert, 1990).

Por otro lado, Skidmore *et al* (1994) no detectaron alguna sustancia similar a los interferones del trofoblasto de los ovinos y bovinos en los embriones de camellos incubados desde los días 10 a 33 post ovulación, pero observaron una habilidad considerable de aromatización de las membranas extraembrionarias a los 10 días post ovulación, sugiriendo que los estrógenos provocan la señal para el mantenimiento de la función luteal.

2.4.3. Mortalidad embrionaria

La mortalidad embrionaria es un factor que reduce la eficiencia reproductiva en muchas especies domésticas, siendo esta pérdida embrionaria más alta en los camélidos sudamericanos. En alpacas, esta pérdida se ha reportado hasta el día 30 en aproximadamente el 50 % (Fernández Baca *et al*, 1970b). Sin embargo, los factores que causan la alta tasa de pérdida embrionaria no son bien conocidos. Aunque, los factores más importantes podrían ser la restricción alimenticia, desbalances hormonales, factores inmunológicos, ambiente externo, entre otros (Sumar, 1983 citado por Sumar, 1997).

Se ha encontrado en alpacas, en el día 3 post servicio, que los índices de fertilización son mayores al 80 % y el número de embriones presentes entre los días 21 y 31 es de 35 %, demostrando que sólo sobreviven el 50 % de éstos después de 30 días de gestación. Si las hembras que presentan pérdida nuevamente entran en celo y son servidas pueden lograr concebir y mantener la gestación (Novoa, 1992; Fernández Baca *et al*, 1970b; Fernández Baca *et al*, 1971).

Fernández Baca *et al* (1979) reportaron que el embrión procedente del cuerno derecho migra hacia el cuerno izquierdo para poder sobrevivir, ya que si el cuerno izquierdo permanece vacío causaría la luteólisis del cuerpo lúteo ubicado en el ovario derecho y

terminaría de esta manera con la gestación. Debido a la acción luteolítica local y sistémica del cuerno izquierdo.

Por otro lado, Cervantes (2004) señaló que el estadio del desarrollo folicular (crecimiento, estática o regresión) parece no tener influencia sobre la mortalidad embrionaria en alpacas. Además, Palomino (2004) determinó que la aplicación de estradiol exógeno a los 8 y 9 días post cópula permite tener una tasa de sobrevivencia embrionaria de 75% en llamas al día 35. Asimismo, Leyva y García (1999a) sugieren que existe mejor efecto al administrar GnRH al día 5 postservicio sobre la sobrevivencia embrionaria en alpacas, coincidiendo con Araínga (2002), quien señaló que al aplicar GnRH en alpacas en el día 4 post ovulación, mejora la tasa de sobrevivencia embrionaria (debido a su efecto luteotrópico), mientras que si se aplica esta hormona durante los días 8 y 9 post ovulación esta tasa disminuye.

2.5. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

Existen diferentes métodos de diagnóstico de gestación, entre ellos se encuentra la conducta sexual, en la cual se observa la receptividad sexual 20 o más días después de un servicio previo. Fernández Baca (1993) señaló el comportamiento sexual de la hembra frente al macho como una técnica para el diagnóstico temprano de preñez en camélidos, ya que las alpacas preñadas rechazaron al macho, y las hembras no preñadas presentaron comportamiento de estro; sin embargo, no todas las hembras que rechazan al macho están preñadas. En condiciones de campo, otro método empleado es la palpación externa o balotaje, el cual tiene una exactitud de cerca del 80 % y se realiza aproximadamente a los 8 meses de gestación (Sumar, 1985 citado en Hafez, 2002).

El método de palpación rectal considera como preñadas a aquellas alpacas en las cuales se determinó la presencia del feto por palpación directa o balotaje del cuerno uterino grávido (Calderón, 1968).

Para el diagnóstico de gestación temprano en llamas y alpacas también se han utilizado las determinaciones de las concentraciones de progesterona, la cual incrementa a partir del día 4 post apareamiento (Aba *et al*, 1995; Aba *et al*, 1997). Sin embargo, estos niveles elevados de progesterona en plasma y leche indican la presencia de cuerpo lúteo, pero no siempre indican preñez (Foote, 1982; Adams *et al*, 1989 citados en Aba, 1995).

La ultrasonografía es utilizada en el diagnóstico temprano de preñez en el ganado vacuno, en yeguas (Adams, *et al*, 2000) y ovejas (Saelzer *et al*, 1989). Asimismo, es empleada para el diagnóstico la gestación precoz en alpacas y llamas, teniendo mayor eficiencia que los métodos tradicionales (Raggi *et al*, 1996).

Según Adams (1997) se estima que el 90% de llamas adultas y más del 75% de alpacas maduras son posibles de ser examinadas mediante ecografía transrectal. La vesícula embrionaria puede observarse por ultrasonografía como una colección irregular de fluido tan temprano como el día 10 (día 12 post empadre), el día 22 post cópula en alpacas se detecta la presencia del embrión y el latido cardíaco es detectado el día 24 (día 26 post empadre) (Adams, 1997; Bravo *et al*, 2000). Además, Parraguez *et al* (1997) señalan que el diagnóstico de gestación por ultrasonografía puede llevarse con seguridad los días 23 y 24 en alpacas y llamas respectivamente. Por otro lado, Bourke *et al* (1992) menciona que el diagnóstico en llamas puede ser tan temprano como a los 19 días después del apareamiento.

2.6. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La biotecnología reproductiva ha sido desarrollada con el fin de aumentar el potencial reproductivo de animales genéticamente superiores en las características más deseables desde el punto de vista productivo, asegurando la conservación de recursos genéticos, el mejoramiento genético y el consiguiente incremento de la producción de los camélidos domésticos (Palomino H, 2000).

La transferencia de embriones es una de las biotecnologías utilizadas para el mejoramiento genético en CSA, ya que la hembra donadora puede aumentar el número de crías durante su vida mediante la recuperación de embriones y su posterior transferencia a receptoras. Con el tiempo esta biotecnología ha sido mejorada, ya que al inicio, la recuperación de embriones se realizaba por el método quirúrgico y posteriormente se desarrolló la técnica de recuperación no quirúrgica y después la técnica de transferencia no quirúrgica (Jainudeen et al, 2002).

2.6.1 Crecimiento y maduración folicular múltiple

El principio fundamental de la transferencia de embriones depende en gran medida de la producción de embriones viables que se obtienen de cada donante de oocitos a través del proceso de superovulación. De esta forma, obtendríamos varias crías al año de una hembra de élite genética (Palomino H, 2000).

El crecimiento múltiple de folículos ováricos se obtiene como respuesta a la administración de hormonas exógenas folículoestimulantes (FSH) con la finalidad de obtener un mayor número de ovocitos así como embriones viables (Palomino H, 2000).

Los factores que determinan el grado de respuesta al tratamiento son la disponibilidad de un adecuado número de folículos antrales sensibles al estímulo gonadotrópico en el momento de administrar la hormona; y el uso apropiado de gonadotropinas, calidad del producto hormonal, dosificación y el momento del ciclo estral en que se administra y la asociación de gonadotropinas con otras, entre otros.

Se ha obtenido un alto número de crecimiento y maduración folicular con un simple tratamiento de hormonas pituitarias o placentarias por vía intramuscular (aplicación de PMSG en una sola inyección de 150 UI en alpacas donadoras), y por vía submucosa vulvar (8.75 mg de FSH- p en seis dosis descendientes por 3 días) (Palomino H, 2000).

Para la superovulación, Palomino (2000) empleó en sus primeros trabajos la aplicación de una sola inyección endovenosa de 0.008 ng de un análogo de GnRH, posteriormente la dosis fue modificada a una inyección de 0.002 ng de GnRH vía submucosa vaginal, posteriormente se realizan las cópulas repetidas con machos seleccionados.

Velásquez y Novoa (1999) señalan que el tratamiento de superovulación con PMSG (Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada) seguido de aplicación de hCG durante la fase luteal tiene una mejor respuesta frente al tratamiento durante la fase folicular en alpacas, así como un mayor número y diámetro de los CL, aunque también se observó la formación de quistes foliculares. Bravo (1995) observó que la FSH no es tan efectiva como la eCG para inducir el crecimiento folicular múltiple, y la ovulación se consigue aplicando 750 UI de eCG. Por otro lado, en llamas la superestimulación ovárica puede ser exitosa mientras se expresa el comportamiento de estro, además la FSHp es más efectiva que la eCG para inducir la superovulación (Correa *et al*, 1997). Bravo (1995) indicó que 1000 UI de eCG en esta misma especie provoca crecimiento múltiple de folículos y menor cantidad de folículos quísticos, además la inducción de ovulación con hCG se dio en un 80% frente al 60% en el caso de empadre natural.

El número de ovulaciones o cuerpos lúteos varían ampliamente entre estudios es así que, Adams y Ratto (2001) encontraron de 2 a más de 11 embriones por animal. Atribuyendo estas diferencias a la variación en el estado folicular en el momento en que los tratamientos superestimulatorios fueron iniciados, presumiblemente la dominancia folicular suprimiría la respuesta superestimuladora en llamas y alpacas.

2.6.2 Donadoras y receptoras

La sincronización del estado reproductivo entre las donadoras y receptoras, se realiza con el fin de sincronizar el ciclo uterino después de la ovulación, es decir, que la edad de los óvulos fertilizados para transferir corresponda a la edad fisiológica del tracto reproductivo que va a recibirlos. Se ha observado que la máxima asincronía permitida

para obtener un porcentaje alto de concepciones es de 24 horas, debido a que los embriones no sincronizados son incapaces de ejercer un efecto luteotrópico sobre el cuerpo lúteo de la receptora (Cutini *et al*, 2000; Palomino *et al*, 1987). Aunque, Palomino *et al* (1987) mencionan que es mejor si la receptora se encuentra un día retrasada que adelantada.

Novoa y Sumar (1968) reportaron que se indujo a la ovulación a tres alpacas receptoras con machos vasectomizados con la finalidad de sincronizarlas con las donadoras. Por otro lado, Palomino *et al* (1987) aplicaron una sola dosis de 0.008 mg de GnRH a tres alpacas receptoras, coincidiendo con el día de la misma inyección y monta de las donadoras.

Del Campo (1997) demostró que aplicando una dosis de 750 UI de hCG vía IV y de 500 a 1000 UI vía IM o IV se induce la ovulación en alpacas y llamas respectivamente para sincronizarlas. Además, reportó también el efecto estacional, ya que en época no reproductiva la dosis fue de 4 a 6 veces la requerida. Una inyección IM de 8 µg del análogo de GnRH (Buserelina), cuando hay un folículo grande, produce la ovulación en el 89% de las llamas.

Por otro lado, Taylor *et al* (2000) realizaron transferencia embrionaria en llamas empleando 22 animales como donadoras y receptoras, las cuales fueron seleccionadas al presentar folículos $\geq 10\text{mm}$ al examen ecográfico. Para la sincronización de las mismas empleó 2mg de LH el día que realizó el empadre de las primeras.

Huanca *et al* (2004) reportaron que el mismo día de la monta de las llamas donadoras se sincronizaron a 15 llamas adultas con GnRH para realizarles posteriormente la transferencia embrionaria, respondiendo al tratamiento 14 de ellas. Posteriormente, en otro estudio, Huanca *et al* (2005 y 2006) emplearon llamas no preñadas y sin cría con folículos $\geq 7\text{ mm}$ para realizar el tratamiento superovulatorio y monta en donadoras, mientras que las receptoras fueron sincronizadas el mismo día de la monta con 0.042 mg de acetato de Buserelina. Además, Huanca *et al* (2001) señalan que la tasa de ovulación

en llamas postratamiento con LH fue de 100% en comparación a aquellas tratadas con GnRH o sometidas a monta.

2.6.3 Recolección y evaluación de embriones

La mayoría de embriones son colectados siete días después del apareamiento e inyección de GnRH mediante la técnica no quirúrgica en los estadios de mórula y de blastocisto expandido (Görlach, 1997; Jainudeen *et al*, 2002). Posteriormente, es importante realizar una evaluación minuciosa de la calidad embrionaria para obtener una transferencia exitosa, ya que los embriones clasificados como excelentes o buenos tiene una alta probabilidad de alcanzar la preñez (Cutini *et al*, 2000).

Novoa y Sumar (1968) reportaron que mediante laparotomía se procedió a recuperar huevos de 6 alpacas. Cuatro de ellas fueron operadas a los tres días post monta, recuperándose 9 huevos en proceso de división (3 huevos de cada donante), las 2 donadoras restantes fueron operadas el día 5 post monta y no se obtuvo ningún huevo. Posteriormente, Novoa *et al* (1998), mediante el método quirúrgico el día 3 post inyección de hCG, recuperaron 32 de 126 embriones potenciales, es decir 126 ovulaciones, los cuales se encontraron en estadio de 2 a 8 blastómeras; en cambio al realizar las recuperaciones los días 7 y 8 post tratamiento no se obtuvieron embriones. Sugiriendo que el desarrollo embrionario en alpacas es más rápido que en otros rumiantes; de tal manera que a los 7 – 8 días post inseminación, los embriones se encontrarían en estado de blastocisto expandido, es decir, sin la zona pelúcida. En esta condición, los embriones pueden ser fácilmente dañados debido a la manipulación del lavado y por lo tanto imposibilitar su recuperación.

Correa *et al* (1992) al realizar la técnica no quirúrgica, 7 días post monta, lograron recuperar 4 blastocistos expandidos de excelente calidad de una llama donadora, de los cuales solo transfirieron 2 embriones a 2 receptoras al cuerno uterino izquierdo, resultando solo una hembra preñada la cual se diagnosticó mediante ecografía y muestra de sangre para detectar niveles de progesterona.

Palomino *et al* (1987) de manera no quirúrgica recolectaron embriones de alpaca entre los días 5 y 7 post cópula, empleando 500 cc de solución salina bufferada de fosfato, luego del proceso de sedimentación y bajo el microscopio estereoscopio seleccionaron 2 embriones en estadio de blástula y un blastocisto bien conformado, los cuales se transfirieron al cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo de las receptoras, naciendo 2 crías de alpaca.

Por otro lado, Taylor *et al* (2000) realizaron el método no quirúrgico para la colección de embriones los días 7 y 8 post empadre, los estadios en que se encontraron los embriones fueron de blastocistos eclosionados (lo que sugiere que los embriones de llama ingresan al útero como blastocistos eclosionando o eclosionados). Además, se determinó que el porcentaje de embriones recuperados es mayor en el día 8 (79 %) que en el día 7 post empadre (55 %). Sin embargo, Huanca *et al* (2004) reportaron que al día 7 post monta se recuperó el 76 % de los embriones posibles y de éstos, el 75 % fueron embriones de buena calidad.

Posteriormente, Huanca *et al* (2005 y 2006) recolectaron, empleando el mismo método, un promedio de 4.8 embriones a los 7 días post servicio de las llamas donadoras; éstos se encontraron en etapa de blastocisto y se transfirieron en fresco el mismo día.

Cancino *et al* (2003) en un estudio realizado en llamas, registraron que el número de embriones recuperados por lavado fue de 0 a 9. Asimismo, Bourke *et al* (1995) mediante la técnica de lavado para la recuperación de embriones obtuvieron entre 0 a 5, considerando una tasa de recuperación de embriones del 38 % aproximadamente. Concluyen que la tasa de recuperación del embrión fue negativamente correlacionada con el número de cuerpos lúteos presentes. Asimismo, Correa *et al* (1992) informaron que un bajo porcentaje de llamas tratadas con eCG llegó a ovular y el número de cuerpos lúteos fue de 2.5 por hembra donante.

2.6.4 Transferencia embrionaria

La transferencia de embriones se realiza colocando los embriones previamente clasificados en los cuernos uterinos de las hembras receptoras sincronizadas (Palomino M, 2000). Esta transferencia se puede realizar de dos maneras, por el método quirúrgico (laparotomía o laparoscopia) o por el método no quirúrgico (técnica transcervical). El primer método fue utilizado inicialmente, pero con el tiempo ha sido prácticamente superado. Siendo las tasas de preñez esperadas en ambos métodos de 60% a más (Görlach, 1997).

Palomino M. (2000) señala que el éxito de la transferencia depende de diversos factores como la calidad del embrión, la sincronía entre el embrión y la receptora, la técnica y lugar de implantación. Asimismo, menciona una interrelación entre el cuerpo lúteo y el cuerno uterino correspondiente al mismo lado (ipsilateral), y el embrión implantado, por lo que el embrión se debe transferir de esa manera. Por otro lado, Arthur (1991) indicó que en vacas, los porcentajes de gestación fueron menores en aquellos embriones que no fueron situados en la luz del cuerno uterino del mismo lado del CL.

Wiepz y Chapman (1985), utilizando el método no quirúrgico, realizaron el lavado y recuperación del embrión viable al día 7 post empadre el cual se transfirió dentro de las 4 horas a la receptora previamente sincronizada con GnRH, donde se confirmó la preñez al día 20 post transferencia, naciendo un macho saludable.

Posteriormente, Taylor *et al* (2000) depositaron los embriones de llamas transferidos, usando el mismo método, en el cuerno izquierdo de las llamas receptoras, ya sea al séptimo u octavo día post sincronización, siendo los rangos de preñez de 26.3 % y de 40.7 % respectivamente. Huanca *et al* (2004) reportaron la transferencia embrionaria en el cuerno del mismo lado donde se encontró el cuerpo lúteo de la llama receptora, observándose 25 días después un 42.8 % de hembras preñadas (6 /14), siendo estos resultados similares a los reportados en bovinos.

El primer reporte de nacimiento de alpaca nacido producto de transferencia embrionaria interespecie alpaca - llama, el embrión fue transferido, mediante el método no quirúrgico el día 7 post sincronización, al cuerno izquierdo de la llama receptora independiente de la ubicación del cuerpo lúteo inducido por LH (Taylor *et al*, 2001).

Huanca *et al* (2005 y 2006) realizaron la transferencia embrionaria a 32 llamas receptoras, reportando tasas de preñez a los 20 y 30 días post transferencia de 78.1 % y 71.8 % respectivamente; la tasa de natalidad fue de 62.5 %, con el nacimiento de 20 crías. Correa *et al* (1992) transfirieron 2 blastocistos expandidos a 2 receptoras al cuerno uterino izquierdo, resultando solo una hembra preñada, la cual se diagnosticó al día 30 mediante ecografía y muestra de sangre para detectar los niveles de progesterona.

En camellos se han obtenido y transferido embriones mediante el método no quirúrgico en el día 7 luego de la ovulación, realizándose el diagnóstico de preñez mediante ultrasonografía en los días 17 – 20 (Skidmore, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El experimento se realizó en la Estación Experimental Quimsachata perteneciente al Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA), ubicada a 4200 msnm, entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas de las provincias de Lampa y San Román respectivamente, en el departamento de Puno, región natural del altiplano, zona agroecológica de Puna Seca, durante los meses de Enero y Marzo.

3.2. Animales

Se utilizaron llamas adultas de 4 a 6 años de edad, 10 como donadoras y 43 como receptoras. Estos animales contaron con historial reproductivo de haber tenido al menos un parto previo.

Todos los animales seleccionados fueron sometidos a las mismas condiciones de manejo productivo siendo alimentados con pastos naturales.

3.3. Procedimiento Experimental.

Las hembras seleccionadas, fueron evaluadas mediante ultrasonografía utilizando un ecógrafo portátil ALOKA SSD 500 equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz de frecuencia, para determinar la presencia de un folículo ≥ 7 mm.

A las hembras donadoras que presentaron folículos ≥ 7 mm, se les aplicó 1 ml de LH (equivalente a 5 mg de LH porcina) vía im para inducir ovulación y la emergencia de una nueva onda folicular. Dos días después se evaluó la respuesta ovulatoria mediante la desaparición del folículo previamente observado mediante ecografía y descrito en registros. Al día siguiente se aplicó 1000 UI de eCG vía i.m. a aquellas hembras que ovularon como tratamiento de superestimulación ovarica. Cuatro días después se les administró 1 ml de PGF2 α (0.150 mg de Triaprost) vía i.m. para producir la luteólisis del CL de la ovulación anterior. Al día siguiente, se realizó la monta de las donadoras y, el mismo día de la monta, se seleccionaron a las hembras receptoras que presentaron en el examen ecográfico folículos ≥ 7 mm aplicándoseles 1 ml de LH vía im para inducir ovulación. Luego de 48 horas se verificó la ovulación mediante ecografía. Siete días después de producirse la monta, se realizó la colección de los embriones mediante la técnica no quirúrgica de lavado uterino transcervical. (Fig. 1)

La técnica empleada fue de acuerdo a lo descrito por Huanca *et al* (2004). La llama donante fue inmovilizada aplicándosele tranquilizante y anestesia epidural, luego se desinfectó y secó la zona vulvar. Se introdujo suavemente un catéter flexible (sonda Foley de 2 vías N° 20) hacia los cuernos uterinos. Luego, a través de una de las vías con una jeringa, se infló un pequeño balón de goma con 15 cm³ de aire para ocluir la luz del útero, esto con el fin de fijar el catéter y prevenir todo reflujo de fluido. En el lavado de cada cuerno uterino para la recuperación de embriones se empleó 250 ml de solución salina bufferada con fosfato (PBS). Una vez que el fluido se encontraba en el útero, éste (conteniendo los embriones) fue recuperado mediante aspiración a través del catéter. Este proceso se repitió luego en el otro cuerno uterino.

Luego, el medio de lavado fue filtrado usando filtros EMCOM (75 μ) y el contenido del filtro fue colocado en placas Petri para la búsqueda de los embriones, los cuales se observaron en un microscopio estereoscopio. Posteriormente, se evaluaron según la escala de clasificación embrionaria de la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (IETS) citada por Skidmore (2000).

Cuadro 1. Clasificación de calidad embrionaria (Skidmore L, 2000)

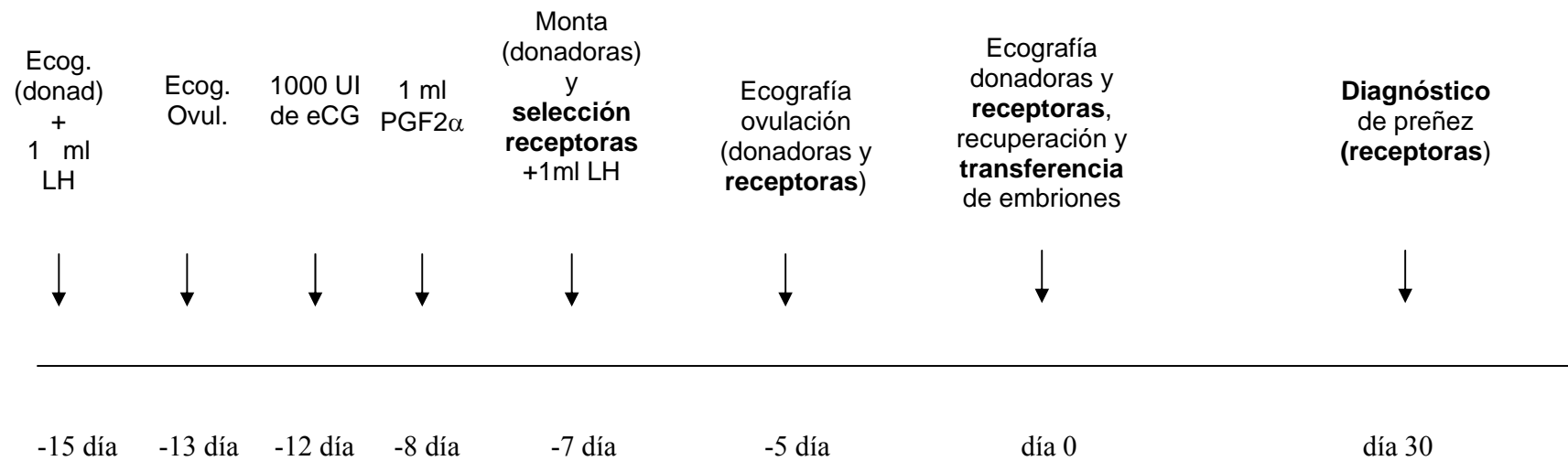
Grado	Características
1	Excelente calidad. No fragmentado, de forma esférica y simétrica, sin ninguna irregularidad y células completas.
2	Buena calidad. Bordes con algunas irregularidades en el contorno y muy poco daño en las células que lo conforman.
3	Mediana calidad. Embrión pequeño con zonas oscuras, contornos irregulares y con algunas células dañadas.
4	Embrión colapsado. Muestran áreas de degeneración y muchas células destruidas.
5	Intransferible. Embriones colapsados muy oscuros o retardados, mórulas oscuras y todos los estadios más jóvenes a mórula u ovocitos sin fertilizar.

En el caso de las hembras receptoras seleccionadas, 20 hembras presentaron folículos ≥ 7 mm en ovario derecho y 23 en el ovario izquierdo el día de la selección. Estos animales fueron seleccionados el mismo día que se realizó la monta de las hembras donadoras, y se les aplicó 1 ml de LH vía IM para inducir ovulación y fueron asignadas en los siguientes cuatro grupos:

- G1: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral.
G2: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral.
G3: (n = 15) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral.
G4: (n = 8) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral

Los embriones seleccionados para ser transferidos en fresco a las receptoras fueron del grado 1 (excelente calidad). Para la transferencia de embriones se utilizó el método no quirúrgico (utilizando la técnica de I.A.) El embrión fue colocado en una pajilla de 0.25 ml y se colocó posteriormente en el aplicador de embriones y se introdujo con el método rectovaginal hasta el cuerno uterino. Mediante esta técnica solamente se transfirió un embrión por llama receptora. El día de la transferencia embrionaria se midió el cuerpo lúteo de las receptoras mediante ecografía, para formar dos grupos según el tamaño ($\leq 10\text{mm}$ y $> 10\text{mm}$) y determinar si existe asociación entre el tamaño y ubicación del cuerpo lúteo, así como, el tamaño del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez. Además, se determinó si existe asociación entre la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia con la tasa de preñez realizada el día 30 post transferencia embrionaria.

Fig. 1. DISEÑO EXPERIMENTAL



3.4. Análisis de los datos

Para el análisis estadístico de los resultados del presente trabajo se utilizó el paquete estadístico STATA versión 9.2 (Stadistic Data Analysis, 2007), con la finalidad de determinar si existe asociación entre los grupos de tratamiento respecto a la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia con la tasa de preñez, el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez, y la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria sobre la tasa de preñez al día 30 post transferencia. Los grupos tratados fueron analizados mediante la tabla de contingencia del Chi cuadrado (χ^2).

IV. RESULTADOS

4.1 Asociación de la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

La asociación entre la ubicación del cuerpo lúteo (CL) y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez al día 30 post transferencia registró una tasa de preñez de 60 % en el grupo G1 (6/10), 30% en el grupo G2 (3/10), 75% en el grupo G3 (12/15) y 25% en el grupo G4 (2/8) (Cuadro 2), indicando que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) al realizar la transferencia ipsilateral al CL del ovario derecho (G1) con los grupos G2, G3 y G4 (Anexo 1). Sin embargo, se encontraron diferencias ($p < 0.05$) al realizar la transferencia ipsilateral al CL del ovario izquierdo (G3) con los grupos G2 y G4 (Anexo 1).

Cuadro 2. Relación de llamas preñadas y vacías según el grupo de transferencia embrionaria.

	G1	G2	G3	G4
Preñadas (n) (%)	6 (60%) <i>ab</i>	3 (30%) <i>b</i>	12 (75%) <i>a</i>	2 (25%) <i>b</i>
Vacias (n) (%)	4 (40%) <i>ab</i>	7 (70%) <i>b</i>	3 (25%) <i>a</i>	6 (75%) <i>b</i>
Total (n)	10	10	15	8

*Valores con letras distintas indican diferencias

G1: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia ipsilateral.

G2: (n = 10) Cuerpo lúteo en ovario derecho y transferencia contralateral.

G3: (n = 15) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia ipsilateral.

G4: (n = 8) Cuerpo lúteo en ovario izquierdo y transferencia contralateral.

4.2 Asociación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

Al evaluar, al momento de la transferencia, la asociación entre el tamaño del CL (≤ 10 mm y > 10 mm) ubicado en el ovario derecho con la tasa de preñez al día 30 post transferencia se registraron los siguientes valores: 25 % (2/8) y 58.33 % (7/12), mientras que al ubicarse el CL en el ovario izquierdo con tamaño ≤ 10 mm y > 10 mm al momento de la transferencia los porcentajes de preñez fueron de 75 % (6/8) y 53.33 % (8/15) respectivamente (Cuadro 3). La prueba de Chi cuadrado indica que no existe diferencia significativa ($p>0.05$) entre los grupos mencionados (Anexo 2).

Cuadro 3. Asociación entre la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

Tamaño CL	Ovario derecho			Ovario izquierdo		
	Total (n)	Preñadas	Vacias	Total (n)	Preñadas	Vacias
≤ 10 mm	8	25%	75%	8	75%	25%
> 10 mm	12	58.33%	41.67%	15	53.33%	46.67%

4.3 Asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez

La asociación entre el tamaño del CL (≤ 10 mm y > 10 mm) al realizar la transferencia embrionaria al cuerno uterino derecho con la tasa de preñez, registró valores de 40 % (2/5) y 46.15 % (6/13), mientras que al realizar la transferencia embrionaria al cuerno uterino izquierdo se registraron tasas de preñez de 54.55 % (6/11) y 64.29 % (9/14) respectivamente (Cuadro 4). Al realizar la prueba de Chi cuadrado para los grupos señalados, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Anexo 3).

Cuadro 4. Asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

Tamaño CL	Cuerno derecho			Cuerno izquierdo		
	Total (n)	Preñadas	Vacias	Total (n)	Preñadas	Vacias
≤ 10 mm	5	40%	60%	11	54.55%	45.45%
> 10 mm	13	46.15%	53.85%	14	64.29%	35.71%

V. DISCUSION

Los resultados del presente estudio indican que al realizar las transferencias embrionarias ipsilaterales a la posición del cuerpo lúteo (CL) en el ovario izquierdo o derecho en llamas las tasas de preñez al día 30 posterior a la transferencia embrionaria son más altas en el cuerno izquierdo con 75% (12/15) y en el cuerno derecho con 60% (6/10). Mientras que, al realizar las transferencias contralaterales a la posición del cuerpo lúteo fueron de 30% (3 /10) y 25% (2 / 8) en el cuerno izquierdo y derecho respectivamente (Cuadro 2). Aunque, sólo se observó diferencia significativa al realizar la transferencia embrionaria ipsilateral al CL ubicado en el ovario izquierdo con respecto a las transferencias contralaterales a la posición del CL (Anexo 1). En ese sentido, Görlach (1997) señala que al realizar la transferencia embrionaria ipsilateral en bovinos, la tasa de preñez esperada es de 60% a más. Mientras que, las tasas de preñez se ven disminuidas en un 30% al realizar la transferencia contralateral. Estos resultados coinciden con el presente trabajo sugiriendo que el embrión ejercería un efecto antiluteolítico favorable para su sobrevivencia.

La mayor tasa de sobrevivencia embrionaria en el cuerno uterino izquierdo en relación a la ubicación ipsilateral del cuerpo lúteo podría deberse a que el cuerno uterino izquierdo presenta condiciones más favorables para el desarrollo embrionario, tal como lo señalan Sumar y Leyva (1979). Por otro lado, las tasas de preñez registradas en el cuerno uterino derecho en posición ipsilateral y contralateral al cuerpo lúteo se atribuiría a lo señalado

por Fernández Baca *et al* (1975) quienes reportaron que en ausencia del cuerno uterino izquierdo, el cuerno derecho también ofrece condiciones igualmente favorables para la sobrevivencia del embrión en la alpaca. Sin embargo, la menor tasa de preñez registrada en el cuerno uterino derecho con cuerpo lúteo ubicado en el ovario izquierdo (Grupo 4) podría deberse a lo señalado por Fernández Baca *et al* (1979) quienes indican que en la alpaca, existe actividad luteolítica local del cuerno derecho y local y sistémica en el cuerno izquierdo. Por otro lado, al realizar la transferencia contralateral en los grupos G2 y G4, la baja tasa de preñez presentada podría atribuirse a que el embrión produciría una débil señal antiluteolítica que ocasionaría una secreción insuficiente de progesterona y regresión prematura del cuerpo lúteo tal como lo que ocurre en gatas (Arthur, 1990; Feldman, 2000), en conejas (Gadsby, 1984) y en vacas (Hansen, 2002).

Huanca *et al* (2005) registraron una tasa de preñez de 71.8% en llamas a los 30 días post transferencia embrionaria previo tratamiento de superovulación similar al empleado en el presente estudio. Mientras, que Taylor *et al* (2000) realizaron la transferencia embrionaria en llamas mediante el método no quirúrgico al cuerno uterino izquierdo, y registraron una tasa de preñez de 66 %. Los resultados del presente estudio respecto a la tasa de preñez son similares a los encontrados por Huanca *et al* (2005), pero difieren al de Taylor *et al* (2000) probablemente debido a que éstos últimos realizaron la transferencia embrionaria el día 9 empleando sólo 3 animales. Por otro lado, Aller (2002) realizó la transferencia de embriones frescos solamente en el cuerno izquierdo en llamas receptoras encontrando una tasa de preñez de 33%, aunque no indica la ubicación del CL

Las evaluaciones ecográficas realizadas el día 7 después de la inducción de la ovulación previa a la transferencia embrionaria en las llamas receptoras registraron cuerpos lúteos (CL) con un tamaño promedio de 11.21 ± 1.88 mm (Anexo 4), los cuales se clasificaron en 2 grupos de animales con CL de tamaño ≤ 10 mm y >10 mm. Esta clasificación se realizó basándose en Adams *et al* (1991), quien señala que el diámetro luteal permanece por encima de 10 mm después del día 10 en llamas preñadas. Asimismo, Fernández Baca *et al* (1970a) sugieren que el CL alcanza su máximo desarrollo el día 8, y el embrión prolonga

la vida funcional del CL sin afectar marcadamente su tamaño, masa total o rango de secreción.

En un estudio realizado por Adams *et al* (1991) reportaron que el diámetro máximo del cuerpo lúteo en llamas el día 6 fue aproximadamente de 12.8 mm. Además, Fernández Baca *et al* (1970a) en un estudio realizado en alpacas observaron que el tamaño del cuerpo lúteo alcanzó un máximo tamaño de 14 mm el día 9 después de recibir un estímulo natural o artificial. Bourke *et al* (1995) después de la administración de eCG en llamas registraron que los cuerpos lúteos alcanzaron un tamaño máximo promedio de 12 (con rangos de 9 a 13mm) en el día 8. Sin embargo, en el presente estudio a la evaluación ecográfica se registró la presencia de un cuerpo lúteo de hasta 16 mm. Esta variación en el tamaño del cuerpo lúteo con relación a estudios anteriores probablemente se debería al día en que se realizó la evaluación ecográfica de las llamas, así como a la producción variable de LH en estos camélidos.

La organización estructural y funcional del cuerpo lúteo se da por acción de la LH (Hafez, 2002). Sustentado en que con un mejor estímulo en la hipófisis hay una mayor liberación de LH, lo cual refuerza el establecimiento y desarrollo del CL para una eficiente secreción de progesterona (Leyva y García, 1999a). Asimismo, England (1969) afirma que el incremento en el tamaño del cuerpo lúteo en los camélidos está relacionado con la actividad secretoria de esta glándula, lo cual es necesario para el mantenimiento de la preñez.

Al evaluar la asociación entre el tamaño y ubicación del CL al momento de la transferencia sobre la tasa de preñez, se encontró que no existen diferencias significativas entre los grupos, lo cual difiere con Fernández Baca *et al* (1970b) donde señala que el CL en el ovario derecho regresa más rápido y sugiere su influencia sobre la sobrevivencia embrionaria. Por otro lado, en vacunos Moreno *et al* (2003), Niemann *et al* (1985) y Spell *et al* (2001) coinciden en señalar que la medición del CL y la concentración de progesterona plasmática de las receptoras al momento de la transferencia embrionaria, están relacionadas positivamente, aunque no se observaron diferencias significativas en los

rangos de preñez post transferencia embrionaria. Esto podría explicar que no existen diferencias entre los grupos en el presente estudio, al evaluar la asociación entre el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia y el lugar de transferencia sobre la tasa de preñez, sugiriendo que la tasa de preñez post transferencia no sería dependiente del tamaño del cuerpo lúteo, ni del sitio de transferencia, lo cual coincide con Skidmore (2005) quien señala que en dromedarios no existe un efecto significativo en el sitio de transferencia sobre el porcentaje de preñez debido probablemente a que el embrión es altamente móvil y puede migrar fácilmente al cuerno uterino izquierdo; así también Sumar y leyva (1979) en llamas y Fernández Baca *et al* (1970b) en alpacas, observaron la migración de los embriones mayormente hacia el cuerno izquierdo, lo cual estaría relacionado con lo hallado por Pajuelo (2000) en alpacas, donde determinó una mayor respuesta contráctil del miometrio en los cuernos uterinos con respecto al cuerpo uterino, debido a que en esas áreas se podrían localizar mayor número de receptores de $\text{PGF2}\alpha$, ayudando al embrión a movilizarse y acomodarse apropiadamente para su implantación, y asimismo al posterior proceso de gestación en el cuerno uterino quien ofrece condiciones favorables para el desarrollo embrionario.

VI. CONCLUSIONES

1. En llamas, a las cuales se les realizó la transferencia del embrión ipsilateral a la posición del cuerpo lúteo en el ovario izquierdo, la tasa de preñez a los 30 días post-transferencia fue mayor (75%) con respecto a los demás grupos.
2. No existe asociación entre la ubicación del cuerpo lúteo y el tamaño del cuerpo lúteo con la tasa de preñez a los 30 días post transferencia embrionaria en llamas.
3. No existe asociación del tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez a los 30 días post transferencia embrionaria en llamas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- **Aba, M.; M. Forsberg; H. Kindahl; J. Sumar; L. Edqvist. 1995.** Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36(4): 489-498.
- **Aba, M.A.; W. Bravo; M. Forsberg; H. Kindahl. 1997.** Endocrine changes during early pregnancy in the alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* 47 (4): 273-9.
- **Aba, M.A.; H. Kindahl; M. Foosherg; M. Quiroga; N. Auza. 2000.** Levels of progesterone and changes in prostaglandin F2 α release during luteolysis and early pregnancy n llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 59(1-2): 87-97.
- **Adams, G.P.; P.G. Griffin; O.J. Ginther.1989.** In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol. of Reprod.* 41: 551-558.
- **Adams, G.P.; J. Sumar; O.J. Ginther. 1990.** Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 90(2): 535-45.
- **Adams, G.P.; J. Sumar; O.J. Ginther. 1991.** Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 24:127-138.
- **Adams, G. 1997.** Pregnancy diagnosis in the llama. *Current Therapy In Large Animal. Theriogenology.* 1st ed.

- **Adams, G.; M. Dominguez. 2000.** Ultrasonography in bovine practice - It's time. Proceedings of the annual meeting of the western canadian association of bovine practitioner. 4: 1-14.
- **Adams, G.P. 2001.** Comparative aspects of follicular dynamics in camelids. Rev Inv Vet Perú. 1: 142-147.
- **Adams, G.P.; M. Ratto. 2001.** Reproductive biotechnology in south american camelids. Rev Inv Vet Perú. 1: 134-141.
- **Aller, J.F.; A.K. Cancino; G. Rebuffi; R.H. Alberio. 1999.** Inducción de la ovulación en llamas. Resumen Del II Congreso Mundial Sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco -Perú.
- **Aller, J.; G. Rebuffi; A. Cancino; E. Alberio. 2002.** Succesful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. Anim. Reprod. Sci. 73:121-127.
- **Araínga, M.R., V. Leyva; W. García; E. Franco. 2002.** Efecto de la GnRH en el proceso del reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. Rev Inv Vet Perú; 14 (2): 104-110.
- **Arthur, G. 1991.** Reproducción y obstetricia veterinaria. Editorial Interamericana.
- **Bazer, F.W.; J.L. Vallet; R.M. Roberts; D.C. Sharp; W. Thatcher. 1986.** Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. J. Reprod. Fert. 76(2): 841-50.
- **Bazer, F.W.; J.L. Vallet; J.P. Harney; T.S. Gross; W. Thatcher. 1989.** Comparative aspects of maternal recognition of pregnancy between sheep and pigs. J. Reprod. Fert. Suppl. 37: 85-9.
- **Bazer, F.W.; W.W. Tatcher; P.J. Hansen; M.A. Miranda; T.L. Ott; C. Plante. 1991.** Physiological mechanisms of pregnancy recognition in ruminants. J. Reprod. Fertil. Suppl. 43: 39-47.
- **Bazer, F.W.; T.E. Spencer; T.L. Ott. 1997.** Interferon Tau: a novel pregnancy recognition signal. Am. J. Reprod. Immunol. Jun; 37(6): 412-20.
- **Bravo, W.P.; J. Sumar. 1989.** Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 30: 271-281.

- **Bravo, P.W.; M.E. Fowler, G.H. Stabenfeldt; B.L. Lasley. 1990.** Ovarian follicular dynamics in the llama. Biol. Reprod. 43: 579-585.
- **Bravo, P.W.; G.H. Stabenfeldt; B.L. Lasley; M.E. Fowler. 1991.** The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated south american camelids. Biol. Reprod. 45: 553-559.
- **Bravo, P.W. 1995.** Physiology of reproduction in the female alpaca. In: Camelids. Published by postgraduate fundation in veterinary science. University of Sydney. Venve Deakin University.
- **Bravo, P.W.; J. Moscoso; C. Ordoñez; V. Alarcon. 1996.** Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. Anim. Reprod. Sci. 43:173-179.
- **Bravo, P.W.; M.M. Mayta; C.A. Ordóñez. 2000.** Growth of the conceptus in alpacas. Am. J. Vet. Res. 61 (12): 1508-11.
- **Bourke, D.A.; C.L. Adam; C.E. Kyle. 1992.** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). Vet. Rec. 130(19): 424-8.
- **Bourke, D.A.; C.E. Kyle; T.G. McEvoy; P. Young; C.L. Adam. 1995.** Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). Theriogenology 44: 255-268.
- **Brown, B. 2000.** A review on reproduction in south american camelids. Anim. Reprod. Sci. 58(3-4): 169-195.
- **Calderón, W. 1968.** Diagnóstico de preñez por el método de palpación rectal en alpacas. Boletín extraordinario IVITA. 35-39.
- **Cancino, A.K. 2003.** Control exógeno de la dinámica folicular ovárica y respuesta superestimuladora en llama (*Lama glama*) con o sin cría al pie. Resumen III congreso mundial de camélidos. Potosí- Bolivia.
- **Cervantes, M. 2004.** Estudio del efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Tesis Med. Vet. FMV – UNMSM. Lima. 43 p.
- **Cervero, A.; F. Domínguez; J.A. Horcajadas; A. Quinonero; A. Pellicer; C. Simon. 2006.** The role of the leptin in reproduction. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 18(3): 297-303.

- Correa, J.E.; M. Ratto, R. Ladrix; R. Gatica. 1992. Obtención de preñez en una llama por transferencia de embriones. Arch. Med. Vet. XXIV. N° 1.
- **Correa, J.E.; M. Ratto; R. Gatica. 1997.** Superovulation in llamas (*Lama glama*) with pFSH and eCG used individually or combination. Anim. Reprod. Sci. 46: 289 – 296.
- **Cutini, A.; M. Teruel; J. Cabodevilla. 2000.** Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. Rev. Taurus N° 7, 28-29 y N° 8, 35-37.
- **Chan, J.L.; C.S. Mantzoros. 2001.** Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. Pituitary. 4 (1-2): 87-92.
- **Chiri, R.; J. Mollo; Sempertegui. 2001.** Determinación de la pubertad en la llama hembra (*Lama glama*). Rev. Inv. – Camélidos sudamericanos. UNEPCA-FCP-UTO. Oruro -Bolivia.
- **Del Campo, M.R. 1997.** Reproductive technologies in south american camelids. In: Current therapy in large animal theriogenology. 1° ed. W.B. Saunders Company. Section VI Llama Theriogenology.
- **England, B.G; W.C. Foote; D.H. Matthews; A. Cardozo; S. Riera. 1969.** Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). J. Endocr. 45: 505-513.
- **Feldman, E. 2000.** Endocrinología y reproducción en perros y gatos. 2da edición. Mc Graw Hill. 825 p.
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa. 1970a.** Corpus luteum function in the alpaca. Biol. Reprod. 3: 252-261.
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa. 1970b.** Embryonic mortality in the alpaca. Biol. Reprod. 3: 243-251.
- **Fernández Baca, S. 1971.** La alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7 IVITA. UNMSM. Lima.43 p.
- **Fernández Baca, S.; J. Sumar; C. Novoa; V. Leyva. 1973.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. Rev. Inv. Pec. (IVITA). UNMSM. 2(2): 131-135.

- **Fernández Baca, S.; J. Sumar; C. Novoa. 1975.** Actividad funcional del ovario y cuerno uterino en la alpaca. An. V reunión ALPA. Maracay, Venezuela. pp. 99.
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; R. Saatman; J. Sumar; C. Novoa. 1979.** Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca. Biol. Reprod. 20: 586-595.
- **Fernández Baca, S. 1993.** Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. Anim. Reprod. Sci. 33: 307-323.
- **Findlay, J. 1993.** An update on the roles of inhibin, activin and follistatin as local regulators of folliculogenesis. Biol. Reprod. 48: 15-23.
- **Fuertes, Q.J. 1961.** Formación del cuerpo lúteo y algunas observaciones en el endometrio de alpacas jóvenes durante los primeros días de la gestación. Tesis MV. FMV-UNMSM. Lima-Perú.
- **Gadsby, J.E.; Keyes, P.L. 1984.** Control of corpus luteum function in the pregnant rabbit: role of the placenta ("placental luteotropin") in regulating responsiveness of corpora lutea to estrogen. Biol. Reprod. 31:16-24
- **Geisert, R.D.; M.T. Zavy, R.J. Moffat; R.M. Blair; T. Yellin. 1990.** Embryonic steroids and the establishment of pregnancy in pigs. J. Reprod. Fertil. Suppl. 40: 293-305.
- **Geisert, R.D.; G.L. Morgan; E.C. Short Jr.; M.T. Zavy. 1992.** Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. Reprod. Fertil. Dev. 4 (3): 301-5.
- **Görlach, A. 1997.** Transferencia de embriones en el ganado vacuno. Editorial Acribia SA. Zaragoza España. Pp. 29-79.
- **Hafez. 2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7ma edición. Editorial McGraw Hill.
- **Hansen, P.J. 2002.** Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. J. Anim. Sci. 80(E. Suppl. 2): E33–E44
- **Huanca, W.; O. Cárdenas; C. Olazábal, M. Ratto; G.P. Adams. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev. Inv. Vet. 1: 462-463.

- **Huanca, W.; T. Huanca; M. Ratto; A.Cordero; O.Cardenas; N. Apaza. 2004.** Transferencia de embriones. Revista de la estacion experimental ILLPA Puno. Año 3 N° 8. Enero –abril.
- **Huanca, W. 2004.** Aplicación de biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos. MV Rev de Cien.Vet Vol 20 N°2. Lima-Perú.
- **Huanca, W.; M. Ratto; A. Cordero; A. Santiani; T. Huanca; G. Adams. 2005.** Evaluación de un tratamiento de superovulación en la respuesta ovárica y tasa de preñez en llamas. Resúmenes de la XIX Reunión Asociación Latinomamerica de Producción Animal. Tampico -México.
- **Huanca, W.; A. Santiani; A. Cordero; O. Cárdenas; M. Ratto; T. Huanca; G.P. Adams. 2006.** Experiencias sobre transferencia de embriones en llamas en la zona altoandina del Perú. III Symposium Internacional de Investigaciones sobre Camélidos Sudamericanos. Arequipa – Perú.
- **Jainudeen, M.R.; H. Wahid; E.S.E. Hafez. 2002.** Inducción de ovulación, producción y transferencia de embriones. En: Reproducción e inseminación artificial en animales. Hafez, E.S.E.; B. Hafez (eds.) 7ª ed. en español. p 415-440. Ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. De C.V. México DF.
- **Leyva, V.; W. García. 1999a.** Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.
- **Leyva, V.; W. García. 1999b.** Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.
- **Leyva, V.; W. García. 1999c.** Efecto de la prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.
- **Leyva, V.; W. García. 1999d.** Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo en alpacas. Resumen sobre el II Congreso Mundial sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco –Perú.

- **Leyva, V.; J. Sumar. 1981.** Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpacas de un año de edad. En Libro de Res. de proyectos de investigación realizados por la UNMSM. 1980-1981. Tomos I y II pg 39.
- **Mantzoros, C.S. 2000.** Role of leptin in reproduction. Ann NY Acad Sci. 900: 174-83.
- **Monniaux, D.; P. Monget; N. Besnard; C. Huet; C. Pisselet. 1997.** Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. Theriogenology (47) Issue 1, 3-12.
- **Moreno, O.; L. Cutaia; R. Tribulo; M. Caccia; I. Videla Dorna; M.A. Aba; G.A. Bo. 2003.** Concentración plasmática de progesterona, área del cuerpo lúteo e índices de preñez en vacas receptoras de embriones. Quinto simposio internacional de reproducción animal. IRAC.
- **Niemann, H.; B. Sacher; F. Elsaesser. 1985.** Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non surgical transfer of frozen / thawed bovine embryos. Theriogenology. Ap; 23(4): 631-9.
- **Novoa, C.; J. Sumar. 1968.** Colección de huevos in vivo y ensayos de transferencia en alpacas. Rev. IVITA. 3er boletín.
- **Novoa, C. 1992.** Reproducción de camélidos. Rev Cien Vet. Vol.8 N° 4. Lima – Perú.
- **Novoa, C.; V. Leyva. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. Publicación Científica IVITA N° 26:30.
- **Novoa, C.; E. Franco; W. García; D. Pezo. 1998.** Dosis de Gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones. XXI Reunion científica anual APPA. UNA-Puno.
- **Olivera, L.V.; D.A. Zago; C.J. Jones; E. Bevilacqua. 2003.** Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. Anat Embryol (Berl) 207 (4-5):317-31.
- **Pajuelo, G. 2000.** Actividad in vitro de la prostaglandina F2 α en el miometrio de alpacas (*Lama pacos*) adultas no gestantes. Tesis Med. Vet. FMV-UNMSM.

- **Palomino, H.; L. Tabacchi; E. Avila; O. Li. 1987.** Ensayo preliminar de transferencia de embriones en camélidos sudamericanos. Rev. de Camélidos Sudamericanos. 5: 10-17
- **Palomino, H. 2000.** Biotecnología del trasplante y micromanipulación de embriones de bovinos y camélidos de los andes. AFA Editores Importadores SA Primera Edición. Perú.
- **Palomino, M. 2004.** Aplicación de estradiol y progesterona sobre sobrevivencia embrionaria en llamas. Tesis Med. Vet. FMV-UNMSM.
- **Parraguez, V.; S. Cortez; F. Gazitua; G. Ferrando; V. McNiven; L. Raggi. 1997.** Early pregnancy diagnosis in alpaca (*Lama pacos*) and llama (*Lama glama*) by ultrasound. Anim. Reprod. Sci. 47: 113-121.
- **Raggi, L.; T. Ulrich; G. Castellaro; M. Zolezzi; R. Rojas; G. Ferrando; V. Parraguez. 1996.** Utilización de diferentes métodos de diagnóstico de gestación, en un rebaño de alpacas (*Lama pacos*) y llamas (*Lama glama*) en el alt de la I región de Chile. Avances en Ciencias Veterinarias. 11(1): 10-15.
- **Ratto, M.H.; R. Gatica; J.E. Correa. 1997.** Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*) treated with pFSH. Anim. Reprod. Sci. 48 (2-4): 325-30.
- **Rodríguez, R. 1959.** Ovulación en las alpacas. Tesis MV. UNMSM. Lima - Perú.
- **Saelzer, P.J.; M.A. Hervé; A.C. Cid; S.K. Del Canto. 1989.** Diagnóstico de gestación temprana en ovejas mediante ecografía transrectal. Avances en Ciencias Veterinarias. 4(2):136-145.
- **San Martín, M.; M. Copaira; J. Zúñiga; R. Rodríguez; G. Bustinza; L. Acosta. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. J. Reprod. Fertil. 16, 395-399.
- **Spell, A.R.; W.E. Beal; L.R. Corah; G.C. Lamb. 2001.** Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. Theriogenology. Jul 15; 56(2): 287-97.
- **Skidmore, J.A.; W.R. Allen; R.B. Heap. 1994.** Oestrogen synthesis by the peri-implantation conceptus of the one humped camel (*Camelus dromedaries*). J Reprod Fertil. Jul; 101(2): 363-7.

- **Skidmore, L. 2000.** Embryo transfer in the dromedary camel (*Camel dromedarius*). In: Recent Advances in Camelid Reproduction, Skidmore L. and Adams G.P. (Eds.) International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), 2000; A1011.1000.
- **Skidmore 2005.** Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* 2(3): 161-171. Jul/ Sept.
- **Stevenson, J. 1997.** Clinical reproductive physiology of the cow. In: *Current Therapy in large animal. Theriogenology*. Edit by Younquist,R.
- **Sumar, J. 1993.** Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y llamas. *Rev Pec Inv IVITA (Perú)* 6 (1): 17-21
- **Sumar, J. B. 1997.** Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. En: *Memorias de I Symposium Internacional Avances en Reproducción de Rumiantes*. Lima. P 30-44.
- **Sumar, J.B. 1999.** Reproduction in female south american domestic camelids. *J Reprod Fertil Suppl*, 54: 169-78.
- **Sumar, J. B. 2002.** Llamas y alpacas. En: *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Hafez, E.S.E.; B. Hafez (eds.) 7ª ed. en español. p 224-242. Ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. De C.V. México DF
- **Sumar, J.; V. Leyva. 1979.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la llama (*Lama glama*). En *Res.Proy. Inv. Realizadas por la UNMSM. 1975-1979. Tomo II* pg 124.
- **Taylor, S.; P. J. Taylor; A.N. James; R.A. Godke. 2000.** Succesful commercial embryo transfer in the llama (*Lama glama*). *Theriogenology*. 53(2): 344.
- **Taylor, P.J; S. Taylor; A.N. James; R.S. Denniston; R.A. Godke. 2001.** Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*. 55 (1): 401.
- **Velasquez, C.; C. Novoa. 1999.** Superovulación con PMSG aplicada en fase follicular y fase luteal en alpacas. *Rev Inv Vet. Perú.* 10 (1): 39-47.

- **Webb, B.; B. Nicholas; J.G. Gong; B.K. Campbell; C.G. Gutierrez; H.A. Garverick; D.G. Armstrong. 2003.** Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Suppl*, (61): 71-90.
- **Wiepz, W.; R.J. Chapman. 1985.** Non-surgical embryo transfer and live birth in a llama. *Theriogenology*. Aug; 24 (2):251-7.
- **Zúñiga, J. 1958.** El celo en las alpacas. Tesis Med. Vet. FMV-UNMSM. Lima, Perú.

VIII. A N E X O S

ANEXO 1.- Asociación de la ubicación del cuerpo lúteo y el lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez en llamas.

Grupo	DxPreñez		Total
	Negativo	Positivo	
Ipsi Derecho	4 20.00	6 26.09	10 23.26
Contra derecho	7 35.00	3 13.04	10 23.26
Ipsi Izquierdo	3 15.00	12 52.17	15 34.88
Contra Izquierdo	6 30.00	2 8.70	8 18.60
Total	20 100.00	23 100.00	43 100.00

chi2(3) = 9.2357 Pr = 0.026

$\chi^2_{(.05)(3)}$ = 7.81

ANEXO 2.- Asociación de la ubicación y el tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

Ovario	DxPreñez		Total
	Negativo	Positivo	
Izquierdo	9 45.00	14 60.87	23 53.49
Derecho	11 55.00	9 39.13	20 46.51
Total	20 100.00	23 100.00	43 100.00

chi2(1) = 1.0829 Pr = 0.298

$\chi^2_{(.05)(1)} = 3.84$

CLcat	DxPreñez		Total
	Negativo	Positivo	
<= a 10	8 40.00	8 34.78	16 37.21
>10	12 60.00	15 65.22	27 62.79
Total	20 100.00	23 100.00	43 100.00

chi2(1) = 0.1246 Pr = 0.724

$\chi^2_{(.05)(1)} = 3.84$

ANEXO 3.- Asociación del tamaño del cuerpo lúteo y lugar de transferencia embrionaria con la tasa de preñez.

CLcat	DxPreñez		Total
	Negativo	Positivo	
<= a 10	8 40.00	8 34.78	16 37.21
>10	12 60.00	15 65.22	27 62.79
Total	20 100.00	23 100.00	43 100.00

chi2(1) = 0.1246 Pr = 0.724

$\chi^2_{(0.05)(1)} = 3.84$

Lug Transf	DxPreñez		Total
	Negativo	Positivo	
CU. Izq	10 50.00	15 65.22	25 58.14
CU. Der.	10 50.00	8 34.78	18 41.86
Total	20 100.00	23 100.00	43 100.00

chi2(1) = 1.0179 Pr = 0.313

$\chi^2_{(0.05)(1)} = 3.84$

ANEXO 4.- Tamaño del cuerpo lúteo al momento de la transferencia embrionaria.

variable	N	mean	sd	min	max
c1	43	11.2093	1.884247	9	16